Aus der Königl. Medizinischen Universitäts-Poliklinik zu Halle.
Direktor: Professor Dr. Mohr.

Zur Chemie der Blutgift-Anämien

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin und Chirurgie

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

eingereicht von

Richard Maidorn

appr. Arzt

aus Jüterbog

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer in Berlin.
1912.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Halle-Wittenberg.

Referent: Prof. Dr. Mohr.
z. Z. Dekan: Geh. Med.-Rat. Prof. Dr. Bernstein.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Die Ansicht, daß die Blutveränderungen bei der perniziösen Anämie des Menschen durch einen im Körper selbst entstandenen Giftstoff hervorgerufen seien, hat sich in den letzten Jahren immer mehr befestigt. Als Stütze für diese Lehre können sowohl klinische als auch experimentelle Erfahrungen herangezogen werden. Bei einer Anzahl klinischer Formen der perniziösen Anämie ist eine Giftwirkung zweifellos vorhanden, z. B. bei der Bandwurmanämie, der schweren Anämie bei Syphilis. Ebenso deuten die Magen- und Darmveränderungen bei der perniziösen Anämie auf ein vom Magendarmkanal aus wirkendes Gift hin. Bei der Bothriocephalusanämie glauben Faust und Tallquist[1]) das toxische Prinzip gefunden zu haben. Es ist ihnen gelungen, aus der Leibessubstanz des breiten Bandwurmes in der Cholesterin-Ölsäureesterverbindung eine Substanz zu isolieren, die sehr starke hämolytische Eigenschaften entfaltet. Die Autoren nehmen an, daß beim Absterben des Wurmes im Darm dieser Stoff in die Blutbahn übergeht und dort die roten Blutkörperchen auflöst. Interessant ist, daß in der Tat die Ölsäure, an Gesunde verfüttert, beträchtliche Anämie hervorrufen kann. Aus der Magen- und Darmschleimhaut bei Gesunden und in angeblich wirksamerer Menge bei Perniziös-Anämischen haben Berger und Tsuchyia[2]) ebenfalls hämolysierende Lipoidstoffe dargestellt.

Bekanntlich sind die ersten von Biermer beschriebenen Fälle von perniziöser Anämie im Wochenbett beobachtet worden.

---

[1]) Faust und Tallquist, Über die Ursachen der Botriocephalusanämie. Arch. f. experim. Pathol. u. Therap. **57**, 367, 1907.

[2]) Berger und Tsuchyia, Deutsches Arch. f. klin. Med. **96**, 252, 1911.

Der Gedanke, daß hierbei das vermittelnde Agens in Schwangerschaftsvorgängen zu suchen sei, wurde besonders nahe gelegt, als man die Hämoglobinurie in der Schwangerschaft und andere auf Giftwirkungen des Uterusinhaltes hindeutende Störungen — Eklampsie — besser kennen lernte. Freund und Mohr[1]) haben mit Rücksicht auf die Anämie und die Hämoglobinurie der Schwangeren die Placenta auf hämolytische Stoffe untersucht und festgestellt, daß in der Placenta ein Blutkörpergift enthalten ist, das jedenfalls zum Teil ebenfalls aus Ölsäure besteht. Auf das Vorkommen hämolytischer Stoffe in den Körperorganen im allgemeinen haben vor längerer Zeit schon Metschnikoff und Levaditi hingewiesen. Von Morgenroth und Korschun[2]) u. a., besonders in letzter Zeit von Friedemann[3]), sind diese hämotoxischen Stoffe der Organe studiert worden. Wir wissen jetzt, daß es sich hierbei um Lipoidsubstanzen handelt, die in Alkohol, zum Teil auch in Äther löslich sind und sehr beträchtliche hämolytische Eigenschaften haben. Sie unterscheiden sich von den Serumhämolysinen Ehrlichs dadurch, daß sie nicht komplexer Art und hitzebeständig sind. Sie werden in normalen Organen nur in geringer Menge und durchaus nicht in allen gefunden. In sehr beträchtlicher Menge treten sie in den der Autolyse unterworfenen Organen auf, ebenso in verfetteten Organen. Die chemische Natur dieser Substanzen ist nicht völlig geklärt. Sicher ist dabei nicht nur die Ölsäure der wirksame Blutkörperchen lösende Stoff, wie auch aus den folgenden Untersuchungen hervorgeht. Ein besonderes Interesse gewinnen diese in verfetteten Organen vorkommenden Substanzen dadurch, daß in den klinischen Fällen von perniziöser Anämie die Organverfettung der charakteristische autoptische Befund ist, und daß die Mehrzahl, wenn nicht alle sogenannten Blutgifte, die im Experiment ein der perniziösen Anämie des Menschen sehr ähnliches Symptomenbild hervorbringen mit den stärksten

---

[1]) Mohr und Freund, Zur Pathogenese der Eklampsie. Berl. klin. Wochenschr. 26, 1908.

[2]) Korschun und Morgenroth, Über die hämolytischen Eigenschaften von Organextrakten. Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 37.

[3]) Friedemann, Über die hämotoxischen Stoffe der Organe. Arch. f. Hygiene **69**.

Organverfettungen einhergeht. Mohr[1]) hat vor einigen Jahren auf diese Tatsachen hingewiesen und die Ansicht vertreten, daß bei der perniziösen Anämie des Menschen die Organverfettung nicht, wie man bisher annahm, die Folge der Blutveränderung, sondern ihre Ursache, zum mindesten etwas Koordiniertes sei. Er hat dabei betont, daß bei der Organverfettung zwei Prozesse nebeneinander hergehen, die durchaus verschiedene biologische Bedeutung haben. Zunächst handelt es sich um die Fettmetamorphose, die infolge der Dekomposition der Organzellen durch das einwirkende lipoidlösliche Gift entsteht, und weiterhin um den Vorgang der Fettinfiltration, als Ausdruck des infolge der allgemeinen Ernährungsstörung einsetzenden Fettransportes. Nur die bei der Fettmetamorphose entstehenden Lipoidsubstanzen sind für die Hämolyse von Bedeutung. Man kann sich vorstellen, daß das primäre Gift zuerst zu einer Verfettung der Organe und dadurch zur Bildung hämotoxischer Stoffe führt, die, in die Blutbahn gebracht, die Erythrocyten zerstören. Gerade einige Formen perniziöser Anämie ordnen sich diesem Gedankengange sehr gut unter. Bei der schweren Anämie der Syphilitiker finden sich, wie die Wassermannsche Reaktion, die zum Teil wenigstens eine Reaktion auf Lipoide ist, anzeigt, lipoide Stoffe in einer von der Norm abweichenden Form im Blut. Wenn in der größten Mehrzahl von Lues trotzdem die Anämie nicht beobachtet wird, so braucht das nicht gegen diese Hypothese zu sprechen. Wir müssen in Betracht ziehen, daß eine genügende Menge von Schutzstoffen die Hämolyse paralysieren kann. Als solche kommen, wie Noguchi, von Liebermann, Mohr und Freund und neuerdings Joannovics und Pick gefunden haben, die Eiweißkörper des Serums, das Cholesterin und die Neutralfette in Betracht. Besonders wirksame Hämolysine sind aus Carcinomgewebe isoliert worden (Kullmann). Es wäre durchaus denkbar, daß die schweren Blutveränderungen bei dieser Erkrankung auf den Übergang von Hämolysinen aus der Geschwulst zu beziehen sind. An Bedeutung gewinnt aber die Mohrsche Hypothese, wenn man den Mechanismus der

[1]) Mohr, Zur Biologie und Chemie der Organverfettung. Verh. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Ärzte **1910**, Abt. f. inn. Med. Oppenheimers Handb. d. Biochem. **4**. Abschnitt: Stoffwechsel bei Anämien usw.

Wirkung einiger Blutgifte, und zwar eines der typischsten des Toluylendiamins, betrachtet. Während die Vergiftung mit dieser Substanz im Tierkörper die schwersten Veränderungen der Erythrocyten hervorruft, findet in vitro eine Auflösung der roten Blutzellen durch das Gift gar nicht oder nur in geringem Maße statt (Kobert[1]) u. a.). Dagegen macht es, wie alle Blutgifte, eine schwere Degeneration der Leber. Der Gedanke liegt nahe, daß nur durch die Vermittlung der Leberschädigung die Blutveränderungen auftreten. Vor kurzen haben nun Joannovics und Pick[2]) gezeigt, daß bei dieser Leberveränderung ein Hämolysin auftritt, und daß nur auf dem Wege über dieses das Toluylendiamin die Auflösung der Erythrocyten zustande bringt. Die Autoren haben dabei noch weitere wichtige Befunde erhoben: Zwischen der akuten und chronischen Vergiftung bestehen hinsichtlich des Hämolysins und der Beeinflussung seiner Wirksamkeit durch die Anwesenheit der Milz im Körper bedeutende Differenzen. Bei der chronischen Vergiftung fanden sie ein durch die Milzexstirpation beeinflußbares Hämolysin, das nach der Ansicht von Joannovics und Pick mit den hämolytischen Substanzen identisch sein dürfte, die bei fettiger Organmetamorphose bzw. bei der Organautolyse entstehen und im wesentlichen niederen und höheren Fettsäuren zuzurechnen sind. Das bei der akuten Vergiftung auftretende Hämolysin ist im Gegensatz hierzu durch die Milzexstirpation nicht zu beeinflussen. Bezüglich der Natur der hämolytischen Stoffe haben Joannovics und Pick festgestellt, daß das bei der akuten Vergiftung in der Leber auftretende Hämolysin in Methyl- und Äthylalkohol, in Äther und Aceton löslich sowie hitzebeständig ist, ferner daß in der chronisch verfetteten Leber Palmitin-, Stearin- und Ölsäure nachweisbar sind und daß in der autolysierten Leber freie Fettsäuren mit hämolytischer Wirksamkeit auftreten, die aus den nicht hämolysierenden Lipoiden entstehen.

Man kann zunächst die Frage aufwerfen, ob die Befunde bei der Vergiftung mit Toluylendiamin auch für andere ähnliche Veränderungen an den Organen hervorrufende Stoffe gelten.

---

[1]) Kobert, Lehrbuch der Toxikologie, S. 785.

[2]) Joannovics und Pick, Beitrag zur Kenntnis der Toluylendiaminvergiftung. Zeitschr. f. experim. Pathol. und Therap. 6, 185 ff.

Trotz vieler äußerer Ähnlichkeiten bestehen zwischen den Giften bedeutende Unterschiede. Es sei hier z. B. auf die Gewöhnung von Hunden an die lange dauernde Verabreichung von Toluylendiamin hingewiesen, wie dies auch vom Phosphor bekannt ist, dagegen nicht beim Nitrobenzol. Die groben Organveränderungen sind bei den beiden Giften ziemlich ähnlich. Ich habe mir deshalb im folgenden zur Aufgabe gemacht, die Toluylendiaminvergiftung mit der P-Vergiftung zu vergleichen. Auch Joannovics und Pick erwähnen, daß sie solche Versuche unternommen hätten, teilen aber keine Resultate mit.

Die Methodik, nach der ich arbeitete, ist die von Joannovics und Pick beschriebene. Der Hund wird durch Entbluten getötet, die Leber lebenswarm entnommen, in der Fleischmaschine faschiert und mit der 3fachen Menge 95%igen Alkohols auf dem Wasserbade mit Rückflußkühler gekocht, dann wird filtriert, der Rückstand im Faustschen Apparate getrocknet. Er wird 48 Stunden mit Äther extrahiert, vom Alkoholextrakt der Alkohol abgedampft, der Rückstand mit Äther aufgenommen und mit dem Soxhletäther vereinigt. Aus diesem Ätherextrakt werden eine Reihe störender Substanzen mit Aceton gefällt, man läßt absetzen und filtriert dann. Das Filtrat wird zur Trockne eingedampft, der Rückstand wird gewogen und mit Methylalkohol so lange auf dem Wasserbade digeriert, bis die Flüssigkeit klar bleibt. Bei meinen Versuchen bin ich nun so verfahren, daß jedesmal 100 g Leberbrei genommen wurden und der Methylalkoholextrakt auf 100 ccm aufgefüllt wurde; 10 ccm davon wurden mit Methylalkohol auf das 10fache verdünnt und diese Verdünnung zu den hämolytischen Versuchen verwendet. Auf diese Weise werden gleiche Gewichtsmengen (100 g) des verarbeiteten Organes hinsichtlich ihres hämolytischen Wertes miteinander verglichen. Die Verdünnung mit Methylalkohol muß man möglichst groß nehmen, um die vom Methylalkohol hervorgerufene Eiweißfällung, die die Beurteilung der Hämolyse sehr stören kann, auszuschalten. Das hämolytische System war folgendermaßen angeordnet:

Nr.	Methylalkoholextrakt	NaCl 0,85%	5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung
1	1,0	—	je 0,2 ccm
2	0,8	0,2	
3	0,6	0,4	
4	0,4	0,6	
5	0,2	0,8	
6	0,1	0,9	
7	0,08	0,92	
8	0,06	0,94	
9	0,04	0,96	
10	0,02	0,98	
11	—	1,0	

Die Hunde befanden sich bei Beginn der Versuche alle in gutem Ernährungszustande. Bei den Vergiftungen der Hunde mit und ohne Milzexstirpation wurden möglichst gleichschwere Exemplare genommen. Da jedoch ein Teil der Hunde vorzeitig starb, ließ sich diese Absicht nicht völlig durchführen. Die Gewichtsdifferenzen sind jedoch nicht so groß, daß dadurch die Beurteilung der Versuche wesentlich erschwert würde. Außerdem wurde beim Tode eines Tieres das Paralleltier getötet.

Normalleber.

Der 6,3 kg schwere Hund wurde durch Entbluten getötet, von der 250 g schweren Leber wurden sofort 100 g zu Leberbrei verarbeitet, 100 g mit der dreifachen Menge 0,85%iger steriler NaCl-Lösung 48 Stunden lang im Brutschrank bei 37° stehen gelassen. Der Ätheracetonrückstand der normalen Leber betrug 0,71 g, die Hämolyse war nach 2 Stunden in Röhrchen Nr. 1 bis 3 komplett, nach 4 Stunden Nr. 1 bis 4 komplett, Nr. 5 partiell, Nr. 6 bis 11 Null. Es lassen sich mit dieser Methode also auch schon in der normalen Leber hämolytisch wirkende Substanzen nachweisen.

Autolysierte Leber.

Das Gewicht des Ätheracetonrückstandes von dem obenerwähnten 48 Stunden im Brutschrank verbliebenen Leberbrei betrug 2,22 g. Die Hämolyse war nach 2 Stunden Nr. 1 bis 8 komplett, nach 4 Stunden Nr. 1 bis 9 komplett, Nr. 10 bis 11 Null. Der hämolytische Wert der autolysierten Leber ist also bedeutend höher als der einer normalen Leber. Damit einhergehend ist der Lipoidgehalt auch auf den etwa dreifachen Wert gestiegen.

Es wurden nun Hunde akut und chronisch mit Toluylendiamin vergiftet, einem Teil der Tiere wurde vorher die Milz exstirpiert. Das Tol. wurde in etwas Milch gelöst per os gegeben.

I. Akute Vergiftung mit Toluylendiamin.

Das Gewicht des Hundes betrug 8,1 kg. Vergiftet wurde er mit 1 g Tol. Tod trat nach 12 Stunden ein, es war kein Ikterus vorhanden, die Leber war makroskopisch nicht verfettet, das Gewicht der Leber betrug 260 g; 100 g Brei ergaben 3,15 g Ätheracetonrückstand (dickflüssig). Die Hämolyse ist nach 2 Stunden Nr. 1 bis 5 komplett, Nr. 6 partiell; nach 4 Stunden Nr. 6 komplett, Nr. 7 partiell, Nr. 8 bis 11 Null. Der Ätheracetonrückstand hat also einen hohen Gewichtswert, ebenso die Hämolyse einen hohen Grenzwert.

II. Akute Toluylendiaminvergiftung mit Milzexstirpation.

Das Gewicht des Hundes betrug 8,5 kg, die Milz wurde am 13. III. 1912 exstirpiert, vergiftet am 20. III. 12 mit 1,5 g Tol. Der Hund wurde

nach 20 Stunden getötet. Es war kein Ikterus vorhanden, die Leber makroskopisch nicht verfettet. Das Gewicht der Leber betrug 490 g; 100 g Brei ergaben 3,79 g Ätheracetonrückstand (dickflüssig). Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 4 komplett, 5 partiell; nach 4 Stunden 1 bis 5 komplett, 6 partiell; nach 4 Stunden 1 bis 5 komplett, 6 partiell, 7 Spuren. Bemerkenswert ist die höhere Giftdosis für den milzexstirpierten Hund, auf die auch schon Joannovics und Pick hingewiesen haben.

III. Chronische Toluylendiaminvergiftung mit Milz.

Der 10,7 kg schwere Hund wurde mit 2,75 g Tol. in toto vergiftet, und zwar erhielt er am 10., 12., 16. I. 1912 je 0,20 g, am 24., 30., 31. I., am 6. II. je 0,25 g, am 7., 8., 9. II. je 0,3 g per os. Das Tier starb am 10. II., bereits am 24. I. war Ikterus aufgetreten, der immer stärker wurde, die Leber war stark verfettet, es bestand starke Anämie. Das Gewicht der Leber betrug 142 g; 100 g Brei ergaben 1,51 g Ätheracetonrückstand. Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 4 komplett, 5 partiell; nach 4 Stunden 1 bis 5 komplett, 6 Spuren, 7 bis 11 Null.

IV. Chronische Toluylendiaminvergiftung mit Milzexstirpation.

Der Parallelhund von 14,5 kg mit Milzexstirpation vom 22. XII. 1911 wurde an den gleichen Tagen mit gleichen Mengen vergiftet. Er wurde getötet am 10. II. 1912. Der Ikterus trat später auf und war geringer als beim Hunde mit Milz. Die Verfettung der Leber war nicht ganz so stark wie beim Hunde mit Milz, dagegen war auffallend die starke Abmagerung und Freßunlust des Tieres, die kaum auf die überstandene Operation als solche zurückzuführen ist, da der Blutverlust dabei sehr gering war und die Wunde gut heilte. Die Leber wog 360 g, 100 g Brei ergaben 1,24 g Ätheracetonrückstand. Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 3 komplett, 4 partiell; nach 4 Stunden 1 bis 4 komplett, 5 Spuren, 6 bis 11 Null.

Zur Übersicht will ich die bisherigen Resultate zusammenstellen.

	Gewicht des Rückstandes g	Hämolyse nach 2 Stunden	Hämolyse nach 4 Stunden
Normal	0,71	1 bis 3 komplett	5 partiell
Autolysiert	2,22	1 „ 8 „	9 komplett
Toluylendiamin akut .	3,15	1 „ 5 „	7 partiell
Tol. akut mit Milzexstirpation	3,79	1 „ 5 „	6 partiell, 7 Spuren
Tol. chronisch	1,51	1 „ 4 partiell	5 kompl., 6 „
„ „ mit Milzexstirpation	1,24	4 komplett	5 Spuren

Es geht aus dieser Zusammenstellung hervor, daß die normale Leber nur wenig hämolytische Substanzen besitzt. Entsprechend dem niedrigen Gewicht des Rückstandes und dem niedrigen hämolytischen Grenzwert. Ganz anders dagegen verhält sich die autolysierte Leber. Rückstand und Grenzwert steigen sehr stark. Dieser Unterschied in der Hämolyse ist auffallend. Es drängt sich dabei die Frage auf: sind in den Organen, d. h. in unserm Falle in der Leber, des Lebenden überhaupt schon hämolytische Stoffe vorhanden oder entstehen diese erst bei der Autolyse? Daß in der normalen Leber hämolytische Stoffe vorhanden sind, geht aus dem oben angeführten Normalversuch und aus den früheren Untersuchungen von Metschnikoff, Morgenroth und Korschun und Friedemann hervor. Es besteht aber trotzdem ein wesentlicher Gegensatz zwischen normalen und autolysierten Lebern vor allem in quantitativer, aber auch in qualitativer Beziehung. Bei der Autolyse treten, wie von Waldvogel, Friedemann bereits festgestellt ist, in großer Menge alkohollösliche Substanzen auf. Friedemann hält diese Substanzen für Umwandlungsprodukte des Lecithins, die den Charakter der Toxolecithide haben analog der Kobralecithidbildung bei der Vergiftung mit diesem Schlangengift und nimmt an, daß dieser Vorgang einem lipolytischen Ferment zuzuschreiben sei, das unter normalen Verhältnissen nicht zur Wirkung kommt. Auch Waldvogel[1]) vertritt eine ähnliche Auffassung. Joannovics und Pick erkennen eine Lecithidbildung nicht an, sondern meinen, daß bei der Autolyse der Leber die an sich nicht hämolytisch wirkenden Lipoide in stark hämolytisch wirkende Fettsäuren übergehen. Jedenfalls ist sicher, daß die Hämolysine der normalen Organe chemisch different sind von denen der autolysierten.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, kann ich die Resultate von Joannovics und Pick hinsichtlich des Hämolysinwertes der Leber nach akuter und chronischer Toluylendiaminvergiftung bestätigen. Der Leberextrakt bei akuter Vergiftung ist dem bei chronischer an hämolytischer Wirksamkeit bedeutend überlegen. Gleichzeitig ist die Menge des Leberextraktes im ersten

[1]) Waldvogel, Centralbl. f. Stoffwechsel- u. Verdauungskrankh. **4**, 10, 1903; Virchows Arch. 77, I, 1904; Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 200, 1904; Deutsch. Arch. f. klin. Med. **82**, 437, 1905.

Falle beträchtlich vermehrt. Wie bereits Joannovics und Pick gefunden haben, treten bei der akuten Vergiftung trotz fehlender makroskopisch und mikroskopisch sichtbarer Verfettung in der Leber Lipoidstoffe von niederer Jod- und Säurezahl auf, die entsprechend ihren Löslichkeitsbedingungen in Äther, Aceton und Methylalkohol den niederen Fettsäuren zuzurechnen sind. Bei der chronischen Vergiftung finden sich im Gegensatze hierzu höhere Fettsäuren, die dem nach der Leber aus den Fettdepots geschafften Neutralfett entstammen und die makroskopisch schon erkennbare Verfettung bewirken. Ganz zweifellos handelt es sich hierbei um einen sekundären Vorgang, der in seiner Intensität abhängig ist von der Dauer und dem Grad der Vergiftung, ferner von dem Fettgehalt des Versuchstieres. Aus diesen drei Momenten erklärt sich der in meinem Versuche und in den Versuchen von Joannovics und Pick vorhandene geringere Gehalt an Fettsubstanz bei der chronischen Vergiftung. Das Maximum der Verfettung wird, wie aus alten Versuchen von Rosenfeld und anderen bekannt ist, nach mehreren Tagen erreicht. In den Versuchen von Joannovics und Pick nach 5 bis 6 Tagen. Alsdann sind die Reservedepots bereits ziemlich erschöpft und der Fettgehalt der Leber nimmt wieder ab. Z. B. ist er bei den Versuchstieren von Joannovics und Pick am 21. Tage bedeutend gesunken. Es läßt sich somit der geringere Extraktgehalt zwanglos aus der Abnahme des Gesamtfettes im Körper erklären. Wie steht es aber mit der Abnahme der hämolytischen Wirksamkeit? Joannovics und Pick meinen, daß bei der akuten Vergiftung nach 12 Stunden die größte Menge der hämolytischen Substanz noch in der Leber gefunden wird, weil sie noch nicht ins Blut abgegeben und daher von den Blutkörperchen noch nicht verankert sei, während bei der chronischen Vergiftung die hämolytische Substanz bereits von den Erythrocyten gebunden sei und infolgedessen nicht mehr in dem Leberextrakt gefunden würde. Damit stimmt nicht überein die Tatsache, daß bei der über 21 Tage ausgedehnten Vergiftung der hämolytische Wert wieder größer geworden ist, obwohl die Gesamtextraktmenge abgenommen hat. Hier müssen noch andere Ursachen in Erwägung gezogen werden. Zunächst könnte sein, daß bei der chronischen Vergiftung infolge all-

mählich eintretender, aber geringerer Schädigung der Leberzellen weniger hämolytische Stoffe überhaupt gebildet werden, da selbstverständlich die Zerstörung der Organzellen eine geringere ist. Es ist aber auch zu erwägen, daß das Toluylendiamin durch das Transportfett gebunden und dadurch von dem Angriff auf die Leberzellen abgelenkt wird. Die Bedeutung der Fettinfiltration als Schutz- und Abwehrvorgang bei Vergiftungen ist bereits von Rosenfeld erwähnt worden. Dafür spricht vor allem die Wechselbeziehung zwischen Glykogengehalt und Fettgehalt der Leber. Mit dem Schwinden des Glykogens in den Leberzellen bei Vergiftungen wandert Fett ein, und wenn es gelingt, durch Zuckerfütterung Glykogenmast zu erzielen, schwindet das Fett wiederum. Mit der Bindung des Giftes durch das eingewanderte Fett wird seine schädliche Wirkung eingedämmt, und das scheint mir auch in der Tat die plausibelste Erklärung für die geringere Hämolyse des Leberextraktes bei der chronischen Toluylendiaminvergiftung zu sein, und auch für die Beobachtung, daß bei sehr lange dauernder Vergiftung schließlich doch der hämolytische Effekt wieder zunimmt. In diesem Falle kam eben infolge des eingetretenen Fettschwundes, der sich schon in dem äußeren Verhalten der Tiere kundgibt, schließlich doch eine erheblichere Zerstörung von Protoplasma zustande, die Lipoide von hämolytischer Wirksamkeit freimacht. Es geht aus alledem hervor, daß die hämolytischen Stoffe aus den Lipoiden der Organzellen entstehen und daß das Transportfett für die Hämolyse nicht oder nur insoweit in Betracht kommt, als ihm Organlipoide beigemengt sind oder freie, höhere Fettsäuren wie die Ölsäure, deren hämolytische Fähigkeit bewiesen ist, beim Transport auftreten. Weiter zeigt sich aber auch hier wieder, daß die Verfettung der Organe kein einheitlicher Prozeß ist, sondern sich aus zwei Vorgängen zusammensetzt: dem Freiwerden der Organlipoide infolge Schädigung der Organzellen, indem das lipoidlösliche Gift mit den Lipoiden der Zellmembran in Reaktion tritt (Mohr), und dem Transport von Neutralfett aus den Fettdepots, der sekundärer Natur und gleichzeitig Folge der Inanition und Abwehrvorrichtung ist.

In den Rahmen dieser Anschauung passen nun auch die Versuchsergebnisse, die wir bei der Phosphorvergiftung erhalten

haben und die wir hier vor Besprechung der Ergebnisse der Milzexstirpation einschalten wollen.

V. Akute Vergiftung mit Phosphor.

Zur akuten Vergiftung wurde ein 6,2 kg schwerer Hund gewählt. Er wurde mit 0,15 g Phosphor per os vergiftet und nach 24 Stunden getötet, da nach dieser Zeit das Paralleltier mit Milzexstirpation spontan starb. Ein Ikterus war nicht vorhanden, die Leber war makroskopisch nicht verändert, verarbeitet wurden 100 g Brei. Der Ätheracetonrückstand betrug 1,55 g. Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 3 komplett, 4 partiell, 5 Spuren; nach 4 Stunden 4 komplett, 5 partiell, 6 Spuren, 6 bis 11 Null.

VI. Akute Phosphorvergiftung mit Milzexstirpation.

Der Parallelhund von 8,2 kg Gewicht wurde 7 Tage nach der Milzexstirpation mit 0,2 g Phosphor vergiftet. Der Tod erfolgte nach 24 Stunden. Es war kein Ikterus vorhanden, stellenweise geringe Verfettung der Leber. Die Leber wog 335 g, verarbeitet wurden 100 g. Der Ätheracetonrückstand betrug 4,8 g. Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 4 komplett, 5 bis 6 Spuren; nach 4 Stunden 5 komplett, 6 partiell, 7 bis 11 Null.

Bei der akuten Phosphorvergiftung ist also der hämolytische Wert erhöht. Auffallend ist der hohe Lipoidgehalt der Leber des milzexstirpierten Hundes.

VII. Chronische Phosphorvergiftung.

Ein normaler Hund von 6,5 kg Gewicht wurde in toto mit 0,01 g Phosphor per os vergiftet, und zwar am 11. I. mit 0,005 g, am 16. I. mit 0,005. Der Hund wurde getötet am 23. I., da das Paralleltier starb. Es war kein Ikterus vorhanden, die Leber verfettet. Das Gewicht der Leber betrug 130 g, verarbeitet wurden 100 g, der Rückstand betrug 7,40 g. Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 4 komplett, 5 bis 6 partiell, 6 bis 11 Null; nach 4 Stunden 1 bis 5 komplett, 6 bis 11 Null.

VIII. Chronische Phosphorvergiftung mit Milzexstirpation.

Als Paralleltier diente ein 6,8 kg schwerer Hund, der 14 Tage nach der Milzexstirpation mit 0,01 g Phosphor in toto vergiftet wurde, und zwar am 11. I. mit 0,005 g, am 16. I. mit 0,005 g. Der Tod erfolgte am 22. I. Der Hund zeigte ähnlich wie der analoge Toluylendiaminhund eine große Freßunlust und starke Abmagerung. Ein Ikterus war nicht aufgetreten, die Leber war verfettet. Das Gewicht der Leber betrug 165 g, verarbeitet wurden 100 g Brei, der Rückstand betrug 2,87 g. Die Hämolyse war nach 2 Stunden 1 bis 6 komplett, 7 bis 8 partiell, 9 bis 11 Null; nach 4 Stunden 1 bis 8 komplett, 9 Spuren, 10 bis 11 Null. Hierbei ist der hohe hämolytische Grenzwert und der geringe Gehalt an Lipoidstoffen auffallend.

Klinisch war bei den Phosphorvergiftungen im Gegensatz zu den Toluylenvergiftungen auffallend, daß die milzexstirpierten Tiere anscheinend geringere Giftdosen vertragen als die milztragenden Hunde, während bei den toluylendiaminvergifteten Hunden das umgekehrte Verhalten vorlag.

Zur Übersicht will ich die gefundenen Werte bei der Phosphorvergiftung zusammenstellen:

	Rückstand	Hämolyse nach 3 Std.	4 Std.
Phosphorvergiftung akut	1,55	1 bis 4 partiell	5 partiell
„ „ mit Milzexstirpation	4,80	5 partiell	5 komplett 6 partiell
Phosphorvergiftung chron.	7,40	5 partiell	5 komplett
„ „ mit Milzexstirpation	2,87	6 komplett 7 bis 8 partiell	8 komplett

Gleichzeitig will ich auch die Ergebnisse der chronischen Toluylendiaminvergiftungen mit und ohne Milzexstirpation und die der chronischen Phosphorvergiftungen mit und ohne Milzexstirpation zur Übersicht zusammenstellen:

	Rückstand	Hämolyse
Toluylendiamin chronisch	1,51	5 komplett
„ „ mit Milzexstirpation	1,24	4 komplett
Phosphor chronisch	7,40	5 komplett
„ „ mit Milzexstirpation	2,87	8 komplett

Aus der Zusammenstellung ist ersichtlich, daß trotz Vermehrung des Lipoidgehaltes der hämolytische Wert bei der akuten und chronischen P-Vergiftung geringer ist als bei der Toluylendiaminvergiftung. Dabei ist bei der akuten Vergiftung auch der Lipoidgehalt bedeutend geringer als bei der entsprechenden Vergiftung mit Toluylendiamin. Daraus läßt sich schon auf eine verschiedene Wirkungsweise der beiden Gifte auf das Protoplasma schließen und läßt sich gerade auch die Differenz in der Beeinflussung des Blutes durch die beiden Gifte verstehen. Bei der akuten P-Vergiftung pflegen hämolytische Er-

scheinungen in größerem Maßstabe zu fehlen, während sie bei der Tol.-Vergiftung die Regel sind. Noch charakteristischer ist der Befund bei der chronischen P-Vergiftung. Trotzdem der Lipoidgehalt um das Vielfache vermehrt ist, zeigt sich keine Zunahme des hämolytischen Wertes. Es handelt sich eben hier, wie aus der klinischen Beobachtung des Versuchstieres hervorgeht, um eine hochgradige Inanition und dadurch bedingten Fetttransport nach der Leber. Die hierbei in die Leber geschafften Lipoide haben aber keine oder nur geringe hämolytische Eigenschaften, wie schon bei der chronischen Tol.-Vergiftung nachgewiesen wurde. Diese Gegensätzlichkeit von Toluylendiamin und Phosphorvergiftung in biologischer Beziehung beleuchtet scharf die Unterschiede in dem Verhalten des Blutes in morphologischer Beziehung. Bei der ersteren akute und fortschreitende Anämie, bei der letzteren im Gegenteil, sowohl bei der akuten als auch bei der chronischen Vergiftung keine Verminderung, gelegentlich sogar in klinischen Fällen eine Vermehrung der roten Blutkörperchen. Die gegensätzliche Wirkung beider Gifte ist aber gleichzeitig auch eine Stütze für die Ansicht, daß in der Tat die bei der Fettdegeneration auftretenden Hämolysine von bestimmtem chemischen Charakter auch in vivo für die Blutkörperchenzerstörung in Frage kommen. Denn wir finden bei dem starken Blutgift Toluylendiamin, bei der akuten Vergiftung niedere Fettsäuren mit starker hämolytischer Wirksamkeit in größerer Menge als bei der akuten P-Vergiftung, und bei der chronischen P-Vergiftung trotz vielfacher Vermehrung des Neutralfettes in der Leber geringe hämolytische Wirkung.

Erwähnt muß werden, daß für die Beurteilung der Verhältnisse die akute wichtiger als die chronische Intoxikation ist. Zunächst ist der Grad der Verfettung natürlich abhängig von dem Ernährungszustand, der bei der P-Vergiftung rascher leidet, da die Nahrungsaufnahme bei den Tieren bald schlecht wird, während Hunde, die mit Tol. vergiftet sind, oft gute Freßlust zeigen und infolgedessen langsamer abmagern. Ferner tritt eine gewisse Gewöhnung an die Giftzufuhr und damit eine Abschwächung ihrer Wirkung ein. Toluylendiamin vertragen die Tiere selbst in größeren Mengen ziemlich lange. Von Bedeutung scheint ferner der Einfluß der Milz zu sein.

Joannovics und Pick haben beobachtet, daß die Bildung der Hämolysine bei der chronischen Tol.-Vergiftung durch die Entfernung der Milz gehemmt wird, gleichzeitig haben sie bemerkt, daß milzlose Hunde eine größere Widerstandsfähigkeit gegen das Gift haben als Normaltiere. Wir können, wie die Tabelle auf S. 9 zeigt, dies bestätigen, ebenso daß die Milzexstirpation auf die akute Vergiftung keinen Einfluß hat. Sehr merkwürdig ist in dieser Beziehung das Verhalten bei der P-Vergiftung. Hierbei ist zweierlei auseinanderzuhalten. Erstens das quantitative Verhalten der Lipoide und zweitens die hämolytische Wirksamkeit der Extrakte. Bei der akuten P-Vergiftung des milzlosen Hundes nimmt die Extraktmenge beträchtlich zu. Der Hund hat nach der Milzexstirpation, obwohl der Wundverlauf ein glatter war, schlecht gefressen und magerte bedeutend ab. Die Zunahme des Lipoidgehaltes ist in erster Linie und wahrscheinlich ausschließlich auf den dadurch gesteigerten Fetttransport zurückzuführen. Dafür spricht auch, daß die hämolytische Wirksamkeit nicht zugenommen hat, denn die Hauptmasse der Lipoide besteht in diesem Falle, wie oben auseinander gesetzt wurde, aus höheren Fettsäuren, die als Hämolysine erst in zweiter Reihe in Frage kommen. Anders ist es bei der chronischen P-Vergiftung des milzlosen Hundes. Auch dieses Tier war nach der Milzexstirpation bedeutend abgemagert. Infolge der längeren Inanition war aber der Fettschwund so stark, daß der Fetttransport bereits nachließ, daher die Verringerung des Lipoidgehaltes in der Leber. Da aber bei der geringen Menge des Gesamtextraktes der hämolytische Wert ein höherer geworden ist, muß man in Konsequenz der bisherigen Resultate annehmen, daß in dem Lipoidextrakt größere Mengen von Organhämolysinen enthalten sind, mithin bei dem milzlosen Tier das Fehlen der Milz besondere chemische Veränderungen in der Leber begünstigt hat. Es liegt hier demnach ein Unterschied gegenüber Toluylendiaminvergiftung vor. Ein solcher macht sich auch darin bemerkbar, daß die milzlosen P-Hunde weniger widerstandsfähig gegen die chronische P-Darreichung waren, als die milzlosen Tol.-Hunde.

Die Frage, ob hierin eine besondere, spezifische Funktion der Milz zu sehen ist, kann ich nicht entscheiden, möchte sie

aber doch eher verneinen. Joannovics und Pick scheinen anzunehmen, daß die Milz in spezifischer Weise hemmend auf die Hämolysinbildung bei der chronischen Toluylendiaminvergiftung wirkt. Es ist aber sehr wohl möglich, daß der geringere Lipoidgehalt der Leber des milzlosen Hundes eine Folge der nach der Milzexstirpation aufgetretenen Ernährungsstörung ist. Wenigstens sind meine milzlosen Tiere ziemlich rasch abgemagert und in einem erheblich reduzierten Zustand in die Vergiftung eingetreten. Das scheint auch bei den Versuchstieren von J. und P. der Fall gewesen zu sein, wie man aus dem Vergleich der Zahlen für das Neutralfett der Leber schließen kann. Bei meinem Versuch mit P-Vergiftung, wo nach der Milzexstirpation der hämolytische Wert höher war als bei dem Kontrolltier, nur die Gesamtextraktmenge niedriger, möchte ich bestimmt annehmen, daß es sich um eine Folge des schlechteren Ernährungszustandes handelt. Infolge der Inanition nach der Milzexstirpation kam es zu einem starken Fettschwund, das Transportfett an der Leber nahm ab, und dadurch kam es zu einem starken Zerfall des Organs mit Freiwerden von Organlipoiden mit starker hämolytischer Wirksamkeit.

Wenn sonach festgestellt ist, daß bei der Wirkung von Blutgiften hämatoxische Stoffe in den Organen entstehen, so ist damit zwar die Möglichkeit gegeben, daß dadurch Zerstörung von roten Blutkörperchen resultieren kann. Ob sie in der Tat stattfindet, hängt in erster Linie davon ab, daß diese Substanzen in wirksamer Menge ins Blut kommen. Obwohl die größte Wahrscheinlichkeit dafür spricht, daß dies der Fall ist, so fehlt dafür doch bisher der Beweis.

Jastrowitz fand in noch nicht veröffentlichen Versuchen mittels quantitativer Analyse des Blutes, daß die Gesamt-Lipoide des Blutes bei der Einwirkung hämolytischer Gifte meistens zunehmen. Einen anderen Weg des Nachweises haben wir eingeschlagen unter Benutzung der Methode von Abderhalden[1]) zum Nachweis von Fermentwirkungen im Blute. Obwohl die Versuche noch nicht abgeschlossen sind, soll hier vorläufig ein solcher Versuch mitgeteilt werden. Abderhalden und seine Mitarbeiter haben

---

[1]) Abderhalden und Rona, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 30.

nachgewiesen, daß bei parenteraler Einverleibung von (körper- und blutfremdem) Eiweiß, Fett und Rohrzucker das Blutserum die Fähigkeit bekommt, diese Körper zu spalten. Eine große praktische Bedeutung hat diese Entdeckung bereits bei der serologischen Diagnose der Schwangerschaft gewonnen. Hierbei läßt sich auf optischem Wege nachweisen, daß das Blutserum imstande ist, placentares Eiweiß zu spalten, was sich in der Zunahme des Drehungsvermögens der Mischung von Serum mit placentarem Eiweiß zeigt. Auch bei der parenteralen Einverleibung von Fett sowie im Hunger tritt im Blutserum Fettspaltung auf, die normalerweise nicht vorhanden ist (Abderhalden und Rona, Abderhalden und Lampé[1]). Die Frage liegt nahe, ob der Übergang von Fetten auf diese Weise bei pathologischen Organverfettungen nachweisbar ist. Das Fettspaltungsvermögen wird mit Hilfe von Tributyrin festgestellt. Die Spaltung dieses Glycerids durch die entsprechenden Blut- resp. Serumproben erfolgte bei 25°. Es wurden zu je 50 ccm Esterlösung, 0,5 ccm Blut resp. 1,0 ccm Serum hinzugefügt, außerdem zu jeder Probe 1 ccm einer Phosphatlösung, die aus einem Teil $^1/_3$ normal primärem Phosphat und zwei Teilen $^1/_3$ normalem sekundären Phosphat hergestellt wurde; dadurch war es möglich, den ganzen Verlauf der Fermentspaltung bei einer konstant gehaltenen H-Konzentration von ca. $1 \cdot 10^{-7}$ zu beobachten. Bisher konnten wir nur wenige Versuche ausführen, die wir mit dankenswerter Unterstützung von Herrn Dr. Lampé, Assistenten am physiologischen Institut, angestellt haben. Der Versuch gestaltete sich folgendermaßen. Nachdem der 6,5 kg schwere Hund in 2 Tagen 0,5 g Toluylendiamin bekommen hatte, wurden ihm aus der Vena jugularis 20 ccm Blut entnommen. 1 ccm des Blutserums wurde nach der oben angegebenen Methode untersucht.

Die Änderung der Oberflächenspannung wurde mittels des Michaelis-Ronaschen Tropfröhrchens verfolgt.

11^{45}	182	Tropfen	in	58,2	Sek.
12^{05}	180	„	„	58,2	„
12^{05}	179	„	„	58,0	„
12^{45}	178	„	„	58,0	„

[1]) Abderhalden und Rona, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 30. — Abderhalden und Lampé, Zeitschr. f. physiol. Chem. **78**, 396.

1^{05}	178	Tropfen	in	58,0	Sek.
1^{25}	177	„	„	58,0	„
1^{45}	176	„	„	58,0	„
2^{05}	172	„	„	58,0	„
4^{00}	172	„	„	58,0	„

Es ergab sich folgende Kurve (Fig. 1).

Die Abszissen stellen die Zeit in Minuten, die Ordinaten die Mengen Tributyrin in Prozenten der gesättigten Lösungen dar.

Bemerkenswerterweise ist bei Hunden mit länger dauernder Vergiftung eine Zunahme des Fettspaltungsvermögens nicht festgestellt worden. Die Ursache könnte in einer Erschöpfung der Fermentproduktion bei den vergifteten Tieren liegen. Es könnte aber auch an dem auffälligen Verhalten der chronisch mit Tol. vergifteten Tiere liegen, auf das schon hingewiesen ist. Wenn auch vorläufig dieser Befund nicht erklärt werden kann, so ist doch die Tatsache, daß bei der akuten Tol.-Vergiftung das Blut serumspaltende Eigenschaften bekommt, ein interessanter Befund, der weiteren Studiums würdig ist.

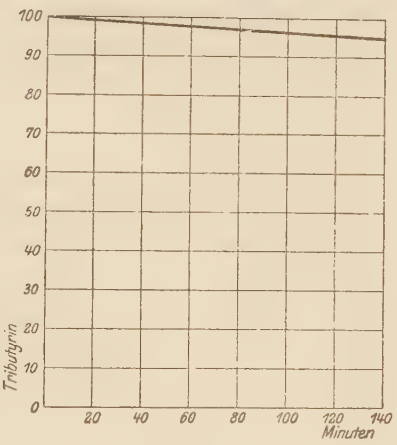

Fig. 1.

Zusammenfassung.

Fassen wir die Ergebnisse der Untersuchungen bei Toluylendiamin- und Phosphorvergiftungen zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Bei akuten Tol.- und P-Vergiftung steigt der hämolytische Grenzwert. Die Hämolysine sind bei diesen Intoxikationen durch Milzexstirpation nicht beeinflußbar.

2. Bei der subakuten resp. chronischen Tol.- und P-Vergiftung hat die Hämolyse einen normalen Wert.

3. Bei der chronischen Tol.-Vergiftung sinkt dieser hämolytische Wert nach der Milzexstirpation. Bei der chronischen P-Vergiftung steigt er nach Milzexstirpation. Das hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß nach der Milzexstirpation infolge der Inanition in die Leber wenig hämolytisch wirksames Depotfett transportiert wird; der höhere hämolytische Wert bei der P-Vergiftung erklärt sich aus einem stärkeren Organzerfall infolge weiter fortgeschrittener Inanition.

4. Wirksame hämolytische Substanzen entstehen nur bei der Fettdegeneration. Die bei der Fettinfiltration in der Leber in geringer Menge vorhandenen Lipoidstoffe haben nur wenig hämolytische Eigenschaften und kommen für die klinischen Formen der Hämolyse nicht in Betracht.

Lebenslauf.

Am 26. Oktober 1886 wurde ich zu Jüterbog als Sohn Richard des Königlichen Ober-Bahnmeisters Maidorn geboren. Mein derzeitiger Wohnort ist Halle a. S. Der Staatsangehörigkeit nach bin ich Preuße. Meine Schulbildung genoß ich auf dem Melanchthon-Gymnasium zu Wittenberg; das Abiturientenexamen bestand ich Ostern 1906. Dem Studium der Medizin widmete ich mich im Sommersemester 1906 in Freiburg i. B., dann 4 Semester in Halle, wo ich am 8. August 1908 die ärztliche Vorprüfung bestand. Im Wintersemester 1908 studierte ich in München, dann vier Semester in Halle. In Halle bestand ich am 31. Mai 1911 die Staatsprüfung. Die Approbation erhielt ich am 13. Juli 1912 mit der Gültigkeit vom 1. Juli 1912. Das Colloquium fand am 8. August 1912 statt.